

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS



(11) N° de publication : 2 749 133
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : 96 07020

(51) Int Cl⁶ : A 23 L 1/29, A 23 L 1/327, 1/32, A 23 K 1/18, 1/16, A 61 K 31/66, 7/48 // (A 61 K 31/66, 31:23)

D1

D2

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 04.06.96.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : 05.12.97 Bulletin 97/49.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés :

(71) Demandeur(s) : MOREAU PIERRE — FR.

(72) Inventeur(s) : MOREAU PIERRE et PIERONI GERARD.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire : CABINET BRUDER.

(54) OBTENTION D'OEUFS SPECIFIQUEMENT ENRICHIS EN ACIDE CERVONIQUE (ACIDE DOCOSAHEXAENOIQUE OU DHA). APPLICATIONS ALIMENTAIRES, THERAPEUTIQUES ET INDUSTRIELLES DE CES OEUFS ET DE LEURS EXTRAITS LIPIDIQUES.

(57) La composition en acide cervonique (DHA) des oeufs de différentes espèces aviaires peut être fortement accrue par manipulation nutritionnelle. Dans ces oeufs, il est possible d'obtenir un enrichissement très spécifique en DHA vis-à-vis de l'acide éicosapentaénoïque (EPA).

Les phospholipides des oeufs sont tout particulièrement enrichis en DHA. Les oeufs, ou bien leurs diverses fractions ou extraits lipidiques constituent une source précieuse de supplément nutritionnel spécifique en DHA vis-à-vis de l'EPA. C'est une matière première naturelle très intéressante pour la préparation:

a) de produits alimentaires utilisables en alimentation familiale, restauration, diététique et agro-alimentaire,

b) de différentes spécialités à usage thérapeutique en pharmacie, cosmétologie, à usage vétérinaire et en supplémentation nutritionnelle.

FR 2 749 133 - A1



Obtention d'oeufs spécifiquement enrichis en acide cervonique (acide docosahexaénoïque ou DHA). Applications alimentaires, thérapeutiques et industrielles de ces oeufs et de leurs extraits lipidiques.

- 5 La présente invention concerne l'enrichissement en acide docosahexaénoïque (DHA, acide cervonique) des oeufs de différentes espèces aviaires, et de poule en particulier, par manipulation nutritionnelle et l'utilisation de ces oeufs et fractions lipidiques dérivées en alimentation, diététique et agro alimentaire ainsi que dans les industries pharmaceutiques, cosmétologiques et vétérinaires avec des visées thérapeutiques.
- 10 Depuis les années 50, les recherches sur l'effet hypocholestérolémiant se sont orientées sur les Acides Gras PolyInsaturés (AGPI) dont 2 séries sont particulièrement importantes en raison de leurs rôles à la fois structural et métabolique. Il s'agit des séries n-6 (ainsi dénommées par le fait que la 1ère double liaison est sur le 6ème carbone de la chaîne à partir du méthyl) et n-3 (la 1ère double liaison est sur le 3ème carbone compté à partir du méthyl terminal).
- 15 A l'origine la recherche s'est orientée vers les acides gras de la série n-6. Quelques études ont examiné les effets de l'huile de poisson riche en acides gras de la série n-3 et concluaient à l'absence d'effet hypocholestérolémiant, seul effet recherché à l'époque, par contre son effet hypotriglycéridémiant très important n'a suscité aucun intérêt.
- 20 Dans les années 70, Bang et Dyerberg ont donné un élan formidable à l'intérêt des huiles de poisson suite à leurs études des populations esquimaux chez qui la mortalité par accident coronarien n'est que de 5,3 % alors qu'elle est de 40,4 % aux USA.
- 25 Plus tard on s'est aperçu que les lipoprotéines VLDL et LDL sont significativement inférieures chez les esquimaux et les HDL sont significativement plus élevés. Les confirmations sont venues du Japon avec les travaux de Hirai et de Hollande avec Kromhout démontrant l'effet bénéfique des acides gras n-3 dans la prévention des maladies cardiovasculaires.
- 30 En 1979, Needleman découvre que les prostaglandines dérivées de l'acide eicosapentaénoïque ou EPA (de la série n-3) ont des propriétés biologiques très différentes, parfois opposées à celles de l'acide arachidonique (série n-6). Bang et Dyerberg notent chez les esquimaux un temps de saignement prolongé et une agrégabilité plaquettaire moindre que chez les danois, plus faibles consommateurs de poisson.
- 35 Childs et collaborateurs en comparant les effets de trois huiles de poisson différant dans leur composition en AG (huile de lieu, riche en EPA, huile de thon riche en DHA et huile de saumon où EPA et DHA sont en proportions sensiblement équivalentes) parviennent à la conclusion que les trois huiles ont un effet hypotriglycéridémiant en tous points comparables.

1.- Les AGPI dans l'organisme

5 Les AGPI ont différents rôles :

1.1- Rôle structural

Les AGPI sont des constituants majeurs des lipides structuraux des membranes cellulaires. Il est facile de modifier la nature des graisses intégrées sous forme de diacylglycérophospholipides (GPL) dans les membranes par l'administration des acides gras (AG) que l'on souhaite intégrer. La structure des membranes est modifiée comme on le veut et ainsi l'activité et l'affinité des récepteurs, la perméabilité membranaire sont améliorées dans le sens souhaité. De même les processus de transport, de sécrétion, de prolifération et de fusion cellulaire sont influencés.

1.2- Rôles métaboliques

La régulation des fonctions cellulaires s'effectue grâce aux éicosanoïdes : Prostaglandines (PG) dont les Thromboxanes (TX), les Prostacyclines (PGI), et les Leucotriènes (LT).

Ils constituent tout un ensemble de dérivés oxygénés des AGPI et participent à des processus nombreux, physiologiques et pathologiques.

1.2.1- Métabolisme de l'acide Arachidonique C₂₀:4(n-6)

Le précurseur le plus important est l'acide arachidonique C₂₀ : 4(n-6) (AA) qui est stocké en position *sn*-2 des GPL membranaires. Il est libéré de cette liaison par une enzyme : la phospholipase A₂ intracellulaire (activée par le Ca⁺⁺) relativement spécifique de l'acide arachidonique (AA).

L'acide gras libéré, sous forme non estérifiée, est ensuite spécifiquement oxygéné selon plusieurs voies métaboliques :

* La voie de la cyclo-oxygénase, enzyme qui catalyse l'oxygénation et la cyclisation de l'AA pour synthétiser les prostaglandines de la série PG₂.

La première prostaglandine formée est la PGG₂ qui par hydroperoxydation donne naissance à la PGH₂ : prostaglandine instable qui subit l'action de 2 types d'enzymes : a) la Prostacycline synthétase qui conduit à la prostacycline PGI₂ dans la paroi vasculaire . PGI₂ est un puissant antiagrégant, vasodilatateur, b) la thromboxane synthétase qui permet la synthèse du Thromboxane TXA₂ au niveau des plaquettes. TXA₂ est un puissant proagrégant, vasoconstricteur.

En même temps sont formés : PGD₂ qui régule le cycle veille-sommeil, PGE₂ qui est activateur de l'adénylate cyclase, vasodilatateur, antiagrégant, bronchodilatateur, agent inflammatoire.

PGE₂ à faibles concentrations est immunostimulant alors qu'à fortes concentrations elle est immunosuppressive, PGF_{2α} provoque la contraction du muscle utérin.

* La voie des lipoxygénases qui sont au nombre de 3. La plus importante est la 5 lipoxygénase qui transforme l'AA en 5HPETE (5 hydroperoxy eicosa tétraénoate) qui donne naissance au LTA₄ instable qui est converti en LTB₄ ou en une série de leucotriènes dérivés sur lesquels sont greffés un ou plusieurs acides aminés LTC₄, LTD₄, LTE₄.

- 5 LTB₄ est étroitement impliqué dans les processus de l'inflammation alors que LTC₄, D₄ et E₄ le sont dans l'allergie et sont de puissants bronchoconstricteurs.

LTB₄ induit la chimiotaxie des neutrophiles, monocytes et éosinophiles en stimulant la sécrétion d'enzymes lytiques et en augmentant la perméabilité vasculaire. Les 12 et 15 HPETE sont des activateurs plaquettaires et leucocytaires.

1 0

1.2.2- Métabolisme d'autres AGPI

Deux autres AGPI sont précurseurs de PG, étant substrats de la cyclo-oxygénase

* L'acide dihomogammalinolénique C₂₀:3(n-6) qui conduit aux PG₁. Parmi elles, PGE₁ est un activateur puissant de l'adénylate cyclase cellulaire (comme la PGE₂ mais sans

- 1 5 son effet inflammatoire).

* L'acide Eicosapentaénoïque C₂₀:5(n-6) ou EPA

Bien que n'étant pas un bon substrat de la cyclo-oxygénase, l'EPA (sous l'effet stimulateur des 12 HPETE et 15 HPETE notamment) forme des prostaglandines PG₃.

- 2 0 Le TXA₃ produit à partir de l'EPA est un thromboxane médiocrement proagrégant et vasoconstricteur. Le métabolisme cyclo-oxygéné de l'EPA inhibe la formation de TXA₂, ce qui revient à potentialiser la formation de PGI₂ avec en plus l'effet potentialisateur des PGD₃ et PGI₃ formés à partir de l'EPA dans l'endothélium vasculaire.

- 2 5 * L'acide Docosahexaénoïque C₂₂:6(n-6) ou DHA, encore dénommé acide cervonique, n'est pas un substrat de la cyclo-oxygénase et n'est donc pas précurseur de prostaglandines mais est inhibiteur puissant de la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines.

EPA et DHA sont substrats de la 5 lipoxygénase. EPA donne naissance à des LT₅ dont LTB₅ peu actif biologiquement comparé à son homologue LTB₄.

3 0 2- Synthèse dans l'organisme

L'acide cervonique (DHA) provient soit de l'alimentation ou bien est synthétisé à partir des acides gras essentiels de la série n-3 dont le premier terme est l'acide α -linolénique (C₁₈:3 (n-3)), ce sont des AGPI.

- 3 5 Les AGPI sont en perpétuel remaniement par le jeu d'enzymes identiques pour toutes les séries : les désaturases et les élongases. Le passage de C₁₈:3 (n-3) à C₂₂:6 (n-3) dans l'organisme a un très mauvais rendement. Il se fait en plusieurs étapes : le passage C₁₈:3 (n-3) à C₂₀:5 (n-3) avec un rendement se situant autour de 15%, puis le passage de C₂₀:5 (n-3) à C₂₂:6 (n-3) avec un rendement d'environ 10%.

Au total, seulement 1,5% environ du C18 :3 (n-3) deviendra du C22 :6 (n-3). C'est peu, et le risque de déficience est fort, puisque peu d'huiles végétales contiennent des quantités notables de C18 :3 (n-3) (huiles de soja, colza).

Certaines situations perturbent en plus la biosynthèse des AGPI qui est sensible à des facteurs alimentaires et hormonaux qui, selon le cas, stimulent cette synthèse ou l'inhibent.

Des états physiopathologiques comme l'âge et la prématurité influencent également négativement le processus biosynthétique, de l'acide α -linoléique à l'acide eicosatétraénoïque. L'alcoolisme et le tabagisme réduisent également l'efficacité de la biosynthèse.

En apportant de l'acide α -linoléique C18 :3 (n-3) en excès, et il en faut beaucoup étant donné le faible rendement pour parvenir à C22 :6 (n-3), il va y avoir une perturbation du métabolisme de l'Acide Arachidonique C20 :4 (n-6), qui n'est pas très présent dans l'alimentation et est synthétisé dans l'organisme à partir de l'acide linoléique C18 :2 (n-6) par utilisation des mêmes enzymes. Il en va de même pour la synthèse de l'acide Eicosapentaénoïque ou EPA C20 :5 (n-3). C'est, en définitive, un détournement de la finalité métabolique de l'organisme. Il en résulte qu'il est beaucoup plus judicieux de ne pas perturber le métabolisme intermédiaire en apportant dans un produit naturel alimentaire le produit final, le DHA. C'est un des aspects avantageux de l'invention d'éviter les interférences métaboliques. Le but recherché est de permettre à l'organisme de disposer dans ses cellules à la fois de DHA et d'Acide Arachidonique (AA) en quantités suffisantes. Ceci est particulièrement important car le développement fonctionnel normal du tissu nerveux par exemple est directement dépendant de la présence simultanée de DHA et d'AA.

3.-Importance biologique du DHA

Les AGPI sont présents dans les membranes cellulaires, préférentiellement estérifiés en position *sn-2* du glycérol des GPL des membranes plasmiques nucléaires et mitochondriales.

Le DHA est l'AGPI n-3 le plus largement représenté dans les membranes cellulaires cérébrales et rétinienne mais aussi dans toutes les membranes.

Jusqu'à présent les très nombreuses études menées sur les AGPI n-3 utilisaient de l'huile de poisson contenant classiquement 30% de n-3, soit 18% d'EPA et 12% de DHA. Ces proportions ne correspondent pas du tout avec celles de nos membranes où la teneur en DHA est considérablement supérieure à celle d'EPA.

C'est un aspect particulièrement avantageux de l'invention de prendre en compte ce fait essentiel.

Les études ont fait apparaître que l'huile de poisson, entre autres, a un effet protecteur cardiovasculaire. Mais le fait qu'EPA et DHA aient été administrés ensemble n'a pas permis jusqu'à présent de différencier l'action spécifique de chacun d'eux. D'autre part, les doses d'huile de poisson à administrer n'étaient pas bien établies.

Dans l'idée d'obtenir des effets rapides, surtout sur les paramètres lipidiques plasmatiques, la tendance initiale a été d'administrer de fortes doses d'huile de poisson ce qui entraîne inévitablement un très gros excès en AGPI n-3 dont un excès énorme en EPA.

Il en découle trois problèmes qu'il convient d'éviter pour garder le respect de la physiologie de l'organisme :

- 5 Les AGPI s'estérifient préférentiellement et presque uniquement en position *sn*-2 dans les phospholipides membranaires. Lorsque ces positions sont totalement saturées, le devenir de l'excès devient hypothétique et la connaissance scientifique actuelle n'apporte aucune réponse. Seul le bon sens impose d'administrer les AGPI avec modération.

- 10 En parallèle à ce risque d'excès, s'ajoute celui engendré par le retard très important de coagulation, potentiellement très dangereux, par exemple en cas d'accident. Cet état d'hypocoagulation est du à la baisse de synthèse de thromboxane TXA₂ par inhibition de libération puis de conversion de l'acide arachidonique en prostaglandine PG₂ en réponse à la présence de forts apports d'EPA.

L'EPA est un médiocre substrat de la cyclo-oxygénase qui concurrence fortement l'acide arachidonique ; de plus, l'EPA est un très puissant inhibiteur de la conversion de l'acide linoléique en acide arachidonique (AA) : effet dont le DHA est dénué.

- 15 Une carence en AA peut intervenir avec des conséquences désastreuses (comme d'ailleurs son excès).

L'examen de la composition en Acides Gras des GPL dans différents tissus humains fait apparaître un certain nombre d'arguments en faveur d'une supplémentation spécifique en DHA, ce qui constitue un élément très avantageux de l'invention.

- 20 Le tableau 1 donne la composition de trois AGPI en % des AG totaux il comprend globalement les phosphatidylcholines, les phosphodiéthanolamines, les phosphatidylsérines. Il apparaît clairement que: a) dans les éléments figurés du sang le coeur et le plasma l'AA est majoritaire (pour fabriquer du thromboxane TXA₂ dans les plaquettes notamment), l'EPA est présent à faible pourcentage, le DHA beaucoup plus important que l'EPA, est très minoritaire par rapport à l'AA : 3,28 fois dans le plasma, 2,68 fois dans les hématies et 22,5 fois dans les plaquettes, b) par contre, dans les
- 25 tissus nobles de l'organisme le DHA est extrêmement majoritaire par rapport à l'AA, alors que l'EPA est pratiquement absent.

Tableau 1 : Composition en % AA - EPA et DHA des diacylglycerophospholipides des tissus
Selon travaux personnels et rapportés par la littérature

TISSUS ou CELLULES	AA		EPA		DHA	
	Valeur maxi	Moyenne	Valeur maxi	Moyenne	Valeur maxi	Moyenne
PLASMA	26,3	20,7	1,4	1,0	12,5	6,3
PLAQUETTES	37,2	24,8	3,6	1,9	3,4	1,1
HÉMATIES	24,2	18,2	1,2	0,6	10,1	6,8
SUBS. GRISE	13,8	6,5	-	-	36,6	21,3
SUBS. BLANCHE	6,4	3,2	-	-	5,6	3,03
RÉTINE	13,4	7,5	-	-	22,2	15,1
SPERME	5,1	5,1	-	-	35,2	35,2
PLACENTA	29,2	25,1	0,1	0,03	8,5	3,8
COEUR	37,1	23,3	-	-	Traces	Traces

Dans la substance grise, le DHA est 3,28 fois plus abondant que l'acide arachidonique, 2 fois plus dans la rétine et 6,9 fois dans les spermatozoïdes. Ce qui signifie que l'AA est essentiel dans tous les tissus ; qu'il doit être présent en grande quantité dans le sang, le cœur (23 fois plus que le DHA) et le placenta pour un bon fonctionnement.

- 5 Par contre, pour les activités de reproduction, de vision et de pensée, le DHA doit être plus abondant, alors que l'EPA y est pratiquement inutile, mais l'AA est présent de façon significative. Ceci est représentatif du fait que AA et DHA sont tous deux indispensables à de nombreuses fonctions, notamment au niveau du système nerveux et de la rétine. Le couple AA-DHA est fondamental pour le prématuré, le bébé pour un développement normal, puis pour un
- 10 fonctionnement harmonieux, besoin qui dure toute la vie et redevient impérieux chez le vieillard. AA et DHA sont en fait des produits finaux des chaînes métaboliques des AGPI n-6 et n-3. Ainsi en cas de carence en DHA (C22 :6 (n-3)) apparaît son homologue de la série n-6, le C22 :5 (n-6) qui, bien qu'homologue, n'a pas du tout les mêmes performances pour le fonctionnement biologique de l'organisme.

15

4.- Effets métaboliques spécifiques au DHA par rapport à l'EPA

4.1- Différenciation des effets sur les lipides du DHA par rapport à l'EPA.

- 20 Il a été bien montré que les effets hypotriglycéridémisants d'EPA et DHA sont très comparables. Par contre en ce qui concerne le cholestérol, alors que l'EPA diminue le HDL-cholestérol et n'agit pas sur le taux du LDL-cholestérol ce qui n'est pas souhaitable, le DHA fait baisser le LDL-cholestérol et augmenter le HDL-cholestérol par transfert du cholestérol des LDL sur les HDL ce qui est infiniment préférable. C'est encore un avantage de l'invention dont la description va suivre.

25

4.2- Effets du DHA et de l'EPA sur l'hémostase.

- Au niveau des processus de coagulation et finalement de thrombose et d'athérosclérose (impliquant des inter relations complexes entre les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses les monocytes, les macrophages et les plaquettes) DHA et EPA ont un comportement différent
- 30 notamment dans leurs interférences avec la biosynthèse des prostaglandines, la résultante étant une action antithrombotique synergique. Dans l'inhibition de l'aggrégation plaquettaire le DHA s'avère presque toujours plus efficace tout en évitant l'inhibition de la production des prostaglandines dérivées de l'acide arachidonique.

3 5 4.3- Effets sur les processus inflammatoires

Les AGPI n-3 influencent les fonctions de nombreuses cellules impliquées dans les phénomènes inflammatoires et immunitaires (neutrophiles, basophiles, éosinophiles monocytes, macrophages, mastocytes et lymphocytes) en modifiant la teneur de leurs glycérophospholipides membranaires par leur incorporation.

Les cellules concernées sont originaires de la moelle osseuse. Elles contiennent les enzymes de la biosynthèse des leucotriènes (les lipoxygénases) impliquées dans l'allergie et l'inflammation. L'EPA donne naissance au LTB5 leucotriène peu actif et l'inhibition de production de LTB4 leucotriène très inflammatoire est provoquée à la fois par l'EPA et le DHA mais principalement par le DHA.

Il importe donc que les apports en AGPI n-3 soient essentiellement composés de DHA mais qu'une certaine quantité d'EPA soit également présente pour que les effets soient au meilleur niveau.

C'est une caractéristique avantageuse de l'invention.

4.4- DHA et tissus nerveux

Le DHA est "essentiel", il est l'AG n-3 préférentiellement utilisé par l'organisme pour le développement des structures cérébrales, rétinienne. Si l'acide α -linoléique ($C_{18} : 3 (n-3)$) est l'unique source de n-3 comme c'est le cas dans les laits maternels le développement neurologique normal n'est pas assuré surtout chez le prématuré privé de l'apport en DHA des dernières semaines in utero. Il risque de s'ensuivre des dysfonctionnements visuels, psychomoteurs et mentaux. Les effets de cette déficience peuvent et paraissent se maintenir pendant la croissance de l'enfant et même sa vie d'adulte. Les implications nutritionnelles sont claires. Comme le DHA est indispensable mais que l'acide arachidonique l'est aussi pour un développement harmonieux du système nerveux, l'huile de poisson n'est pas une solution nutritionnelle convenable puisque l'EPA y est majoritaire et que cet AGPI réduira les concentrations fonctionnelles en AA.

Il est donc indispensable d'apporter une supplémentation comportant du DHA en quantité appréciable accompagné par très peu d'EPA pour que le couple DHA-AA indispensable puisse fonctionner pour un développement des tissus nerveux harmonieux et pour un maintien de ce fonctionnement au cours de la vie. Les doses à apporter à l'enfant seront comprises dans une fourchette allant de 10 mg de DHA par jour à 250 mg de DHA par jour dans les cas de déficience grave comme dans le cas du syndrome de Zellweger. Chez les personnes âgées on peut envisager un apport, en entretien, de 50 à 200 mg par jour. Les doses pharmacologiques demandent encore à être précisées chez l'adulte.

5.- L'invention : son objet

L'objet de l'invention est de proposer un produit, qui ne repose pas sur un mélange de différents produits lipidiques, mais qui soit un produit unique, modifié par voie biotechnologique et donc essentiellement naturel, contenant du DHA dans un rapport masse d'acide DHA divisée par la somme des masses d'acide DHA plus acide EPA supérieur ou égal à 0,9.

Le produit obtenu doit être aisé à utiliser pour enrichir les aliments, pour améliorer la nutrition et être utilisé en diététique et même en pharmacie.

Il doit être stable et ne pas avoir les inconvénients d'odeur, de goût et de provoquer les régurgitations des huiles de poisson.

Il doit enfin être riche en GPL chargés en DHA par rapport aux triacylglycérides (triglycérides) de façon à favoriser l'apport de DHA au cerveau qui se fait très efficacement sous forme de 1 lyso-2

- 5 DHA monoacylglycérophospholipide, et aux GPL des membranes cellulaires.

6.- L'invention : son procédé

- 1 0 Par manipulation nutritionnelle, on peut enrichir spécifiquement en DHA les GPL de l'oeuf de poule (ou autres espèces aviaires telles que caille, pintade).
 Dans l'oeuf de l'oiseau traité selon le procédé de l'invention, les GPL s'avèrent avoir une teneur en DHA particulièrement élevée par rapport à l'EPA selon des études personnelles.
 L'intérêt des GPL d'oeuf est de constituer une forme d'apport originale, pour la meilleure
- 1 5 incorporation finale de DHA dans les membranes.
 Le métabolisme des GPL conduit ainsi comme indiqué plus haut à la synthèse de 1 lyso 2 DHA phospholipide, qui est spécifiquement transporté vers le cerveau et les tissus nerveux par l'albumine ce qui en fait la forme d'apport privilégiée et la plus efficace en DHA (5,56 fois plus que l'huile de poisson selon études personnelles).
- 2 0 Le procédé consiste donc à obtenir une incorporation du DHA de l'alimentation de l'animal dans les GPL de l'oeuf avec une grande sélectivité par rapport à l'EPA (masse de DHA supérieure ou bien égale à treize fois la masse de l'EPA). Cette concentration relative en DHA est très spécifique des GPL, car dans les triglycérides la teneur en DHA est faible (masse de DHA égale à trois à quatre fois la masse de l'EPA seulement).
- 2 5 Des poules pondeuses sont alimentées ad libitum par un régime standard auquel on ajoute une supplémentation entre 0,5% et 25% d'huile de chair de poisson ou d'huile de foie de morue ou de poisson ou bien de farine de poisson ou d'autolysat de poisson. Au terme d'une période comprise entre 6 et 20 jours les oeufs sont enrichis en DHA et présentent des GPL très riches en DHA, contenant plus de la moitié de la masse du DHA effectivement incorporé dans les lipides de l'oeuf.
- 3 0 Ces GPL enrichis en DHA constituent une des caractéristiques des oeufs selon l'invention. Dans les lipides totaux de l'oeuf la teneur en DHA est supérieure ou égale 2% de la teneur en Acides Gras du jaune d'oeuf soit au moins 100 mg de DHA par oeuf, dans le cas de la poule. Le rapport de la masse de DHA divisée par la somme des masses de DHA et d'EPA est supérieur ou égal à 0,9.
- 3 5 Si le même régime alimentaire est appliqué aux poules pondeuses pendant plusieurs dizaines de semaines, la composition lipidique des oeufs enrichis en DHA est maintenue, voire améliorée, en ce qui concerne la composition en DHA des GPL et la sélectivité de l'enrichissement relatif vis-à-vis de l'EPA ainsi que le pourcentage en masse du DHA dans les lipides totaux de l'oeuf.
 Le traitement des autres espèces aviaires est sensiblement le même.
- 4 0

6.2- Exemple

- 20 poules pondeuses de type Warren âgées de 20 semaines, sont élevées en plein air, sous abris, et alimentées *ad libitum* par un régime standard "Poules" dont la composition est donnée dans le tableau 2. La stabilisation de la production des oeufs à son niveau maximum est atteinte au bout de cinq semaines. Les poules sont alors séparées en deux groupes égaux en nombre. Le lot témoin est maintenu au régime standard. Le deuxième lot consomme le régime standard supplémenté en huile de saumon (Grade 12/8, dont 12% de la masse des acides gras est constituée par de l'EPA et 8% par du DHA) à raison de 5 g pour 100 g de granulés, soit 4,76% (poids/poids). Le régime supplémenté en huile de saumon est préparé, tous les 15 jours, par pulvérisation de l'huile sur les granulés dans un malaxeur. Il est conservé sous vide dans des sachets plastiques étanches, contenant la quantité nécessaire pour chaque jour de régime (1,5 kg, soit 150 g par jour et par poule), et stockés en chambre froide à 4°C.
- Les compositions en acides gras de l'huile de saumon et des régimes sont données dans les tableaux 3 et 4. Les oeufs, récoltés quotidiennement, sont datés, décomptés, pesés et stockés à 4°C jusqu'au moment de l'analyse. A différents temps de régime, 6 oeufs de chaque lot sont prélevés au hasard et analysés pour leur composition en lipides et en acides gras. A la fin de la période d'étude proprement dite (24 jours), les poules du groupe témoin sont elles aussi soumises au régime supplémenté en huile de saumon, afin de passer à une phase de production quantitative d'oeufs enrichis en AGPI(n-3). Les oeufs sont ramassés quotidiennement, comptés, pesés et stockés à 4°C.

Tableau 2 : Composition du régime standard 'Poules'

Constituants analytiques	Masse %
Protéine brute	17
Matières grasses brutes	3
Cellulose brute	5
Humidité	12
Cendres brutes	9
Mélange vitaminique	QS

Tableau 3 : Composition en acides gras de l'huile de saumon (Masse % des AG totaux)

Acides gras	Moyenne	SEM
C14:0	6,69	0,30
C15:0	0,61	0,05
C16:0	13,28	0,71
C16:1	10,55	0,47
C17:0	1,39	0,37
C18:0	2,72	0,17
C18:1 (n-9) et (n-7)	18,79	0,42
C18:2(n-6)	1,52	0,12
C18:3(n-3)	0,64	0,14
C18:4(n-3)	2,35	0,17
C20:1(n-9) et (n-7)	8,66	0,47
C20:4(n-6)	1,01	0,17
C20:5(n-3)	11,08	0,19
C22:1(n-11) et (n-9)	5,06	0,16
C22:3/4	0,39	0,14
C22:5(n-3)	3,35	0,21
C22:6(n-3)	11,9	0,44
Cholestérol	430 mg/100g	

Tableau 4 : Composition en acides gras des régimes (Masse % des AG totaux)

Acides gras	Régime standard	Régime "saumon"
C14:0	-	3,73
C15:0	-	0,34
C16:0	18,6	15,63
C16:1	0,7	6,19
C17:0	-	0,78
C18:0	2,7	2,71
C18:1(n-9) et (n-7)	28,3	23,00
C18:2(n-6)	45,3	20,90
C18:3(n-3)	4,4	2,30
C18:4(n-3)	-	1,31
C20:1(n-9) et (n-7)	-	4,83
C20:4(n-6)	-	0,56
C20:5(n-3)	-	6,18
C22:1(n-11) et (n-9)	-	2,82
C22:3/4	-	0,22
C22:5(n-3)	-	1,87
C22:6(n-3)	-	6,64
Cholestérol	-	240 mg/100g

Tableau 5
Composition en acides gras des lipides totaux du jaune d'oeuf au cours du régime
(Masse % des AG totaux)

Acides gras	Moyennes Témoins	Groupe consommant l'huile de saumon						
		Jour 4	Jour 7	Jour 10	Jour 13	Jour 16	Jour 22	Jour 70
C14:0	0,50	0,61	0,74	0,75	0,81	0,71	0,72	0,73
C16:0	28,31	26,69	26,92	25,8	26,59	25,06	25,44	25,91
C16:1(n-7)	4,04	3,86	3,98	3,80	3,88	3,41	3,34	3,64
C18:0	7,87	7,73	8,26	9,16	7,98	8,12	8,37	8,30
C18:1(n-9)	40,94	42,38	40,39	40,93	40,29	40,72	39,01	41,48
C18:2(n-6)	14,04	14,00	13,25	12,8	13,71	13,75	14,72	11,65
C18:3(n-3)	0,55	0,56	0,60	0,62	0,68	0,61	0,7	0,46
C20:1(n-9)	0,24	0,34	0,41	0,50	0,51	0,91	0,49	0,40
C20:4(n-6)	1,77	1,56	1,31	0,90	0,83	1,04	0,89	0,65
C22:4(n-6)	0,42	-	-	-	-	-	-	-
C22:5(n-3)	0,15	0,34	0,59	0,58	0,53	0,67	0,78	0,74

5

Tableau 6
Composition en acides gras des triglycérides du jaune d'oeuf au cours du régime
(Masse % des AG totaux)

Acides gras	Moyennes Témoins	Groupe consommant l'huile de saumon						
		Jour 4	Jour 7	Jour 10	Jour 13	Jour 16	Jour 22	Jour 70
C14:0	0,56	0,71	1,01	0,95	0,84	0,87	0,95	0,88
C16:0	26,36	25,99	26,45	24,41	23,82	24,09	23,35	23,75
C16:1(n-7)	5,68	4,80	4,91	4,71	5,90	4,39	5,51	5,72
C18:0	5,34	5,76	6,57	6,65	5,94	6,09	6,50	6,89
C18:1(n-9)	46,97	46,79	45,26	47,05	46,35	46,77	43,77	46,72
C18:2(n-6)	13,50	13,66	12,84	12,64	14,23	14,57	15,46	12,49
C18:3(n-3)	0,66	0,67	0,64	0,73	0,83	0,80	0,91	0,62
C20:1(n-9)	0,30	0,38	0,62	1,19	0,66	0,60	0,69	0,43
C20:4(n-6)	0,39	0,47	0,36	0,31	0,27	0,33	0,33	0,29
C22:5(n-3)	0,10	0,26	0,38	0,43	0,38	0,52	0,73	0,65

10

Tableau 7
Composition en acides gras des phospholipides du jaune d'oeuf au cours du régime
 (Masse % des AG totaux)

Acides gras	Moyennes Témoins	Groupe consommant l'huile de saumon						
		Jour 4	Jour 7	Jour 10	Jour 13	Jour 16	Jour 22	Jour 70
C14:0	0,14	0,50	0,30	0,31	0,32	0,29	0,27	0,30
C16:0	30,49	31,39	31,77	32,53	31,29	32,02	30,83	32,47
C16:1(n-7)	1,47	1,45	1,35	1,28	1,19	1,03	0,90	0,98
C18:0	14,86	14,18	13,88	12,99	13,29	14,81	14,07	13,10
C18:1(n-9)	27,95	25,28	23,76	23,15	22,31	24,17	21,55	24,01
C18:2(n-6)	13,11	13,07	11,39	10,85	10,98	11,14	11,01	9,27
C18:3(n-3)	0,03	0,11	0,14	0,08	0,10	0,00	0,00	0,00
C20:1(n-9)	1,23	0,37	0,70	0,54	0,32	1,16	0,86	1,00
C20:4(n-6)	5,47	5,22	3,89	2,56	2,61	2,71	2,42	1,67
C22:4(n-6)	1,31	0,92	0,54	0,52	0,18	0,16	0,18	0,00
C22:5(n-3)	0,30	0,53	0,86	0,89	0,92	0,84	1,13	1,09

7.- Utilisation des oeufs de l'invention et des diacylglycérophospholipides riches en DHA

- L'oeuf peut être, bien sûr, utilisé tel quel cru ou dur.
- Le jaune séparé peut être utilisé soit tel quel, soit déshydraté à différents niveaux, par différents procédés, soit cuit.
- 10 - Les GPL du jaune d'oeuf peuvent être extraits par toutes les techniques utilisées en lipochimie, constituant ainsi une matière première source de DHA avec un rapport de la masse de DHA divisée par la somme des masses de DHA et d'EPA supérieur ou égal à 0,9.
 Les utilisations de l'invention sont extrêmement nombreuses et peuvent intervenir en remplacement du jaune d'oeuf produit classiquement jusqu'à présent et utilisé actuellement :
- 15 - dans l'industrie agro-alimentaire
- dans les restaurants et les collectivités
- dans l'industrie diététique
- dans l'industrie pharmaceutique, vétérinaire et cosmétique.
- 20 **7.1- Industrie Agro-Alimentaire**
 Cette industrie au sens large du terme, peut utiliser les oeufs ou la poudre d'oeuf selon l'invention dans les produits suivants à titre d'exemple et non limitatif :
 - * Produits laitiers : yaourts, petits suisses, fromages frais, crèmes dessert, flans
 - * Laits maternisés des différents âges.
- 25 * Aliments pour bébés, enfants (petits pots, farines, desserts, surgelés en purée, etc.....)
- * Aliments pour sportifs

- * Pâtisserie, boulangerie
- * Biscuiterie (biscuits, biscottes, pain d'épices)
- * Pâtes alimentaires et sous-produits (raviolis, cannelloni ...)
- * Potages en sachets
- 5 * Charcuterie
- * Sauces
- * Petits déjeuners
- * Confiserie : barres chocolatées, barres énergétiques ...
- * Collectivités : oeufs, panure....
- 10 * Cuisine personnelle : omelettes, pâtisserie
- * Préparations pour restaurants

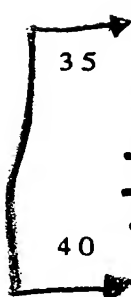
7.2- Industrie Diététique

- Il s'agit des produits diététiques d'amaigrissement, d'énergie, de bonne santé, apportant sous un
- 15 volume réduit des produits essentiels supplémentés en DHA comme décrit dans l'invention.

7.3- Industrie Pharmaceutique

- Au plan pharmaceutique, la fraction phospholipidique provenant des oeufs telle que décrite dans l'invention, riche en DHA de façon appropriée à sa finalité, dûment isolée, purifiée et stabilisée
- 20 trouvera des indications majeures dans des produits orientés vers :

- le métabolisme des lipides avec hausse du HDL cholestérol et donc prévention de l'athérosclérose
- la régulation de l'hémostase et prévention de la thrombose
- l'abaissement physiologique de la tension artérielle
- la prévention de l'inflammation et de la dégradation articulaire et de l'ostéoporose
- 25 - le maintien de la capacité immunitaire pour la prévention des infections
- le bon fonctionnement du tissu nerveux donc du système nerveux central et de la rétine
- la prévention du vieillissement, au moins partiellement
- les effets physiologiques anti déprimeurs
- le traitement des maladies neurologiques y compris la maladie d'Alzheimer
- 30 - la prévention de la crise allergique, au moins partiellement
- la prévention, au moins partielle, de l'effet des xénobiotiques toxiques inhibiteurs des désaturases (tabac, alcool)
- la stabilisation du diabète par l'amélioration des anomalies et de la tolérance au glucose
- 35 - le syndrome d'immunodéficience acquise dont les malades, bien avant d'avoir évolué au SIDA et qui sont encore séropositifs seulement, ont des taux anormalement bas dans les membranes cellulaires d'AGPI à longue chaîne principalement de la série n-3. De la correction et de la normalisation de ces concentrations anormales en acides gras par des glycérophospholipides riches en DHA l'état clinique et biologique de ces malades s'améliore principalement par la baisse de production de TNF (Tumor Necrosis Factor) particulièrement élevé chez ces malades (selon études
- 40 personnelles).



distribución de grasa corporal ← ácidos grasos
+
niveles plasmáticos
+
hipertensión

abans baixes
per prod

- la prévention de certains cancers ou au moins le ralentissement de leur évolution et l'augmentation de la sensibilité des tumeurs à certaines drogues antitumorales probablement en accroissant la perméabilité des cellules cancéreuses aux médicaments
- la baisse de l'hypertriglycéridémie du sujet insuffisant rénal chronique
- 5 - le traitement du syndrome de Zellweger qui est caractérisé par une absence d'activité des désaturases.

Autre domaine pharmaceutique, la nutrition artificielle entérale et parentérale.

- Jusqu'à présent, aucun produit utilisé dans ces techniques de pointe ne comportent de DHA. Tout au plus ils contiennent de l'acide α -linoléique dont le rendement pour parvenir au DHA est voisin
- 10 de 1,5% comme déjà indiqué, ce qui est très insuffisant.

L'incorporation du produit naturel selon l'invention dans les produits de nutrition entérale ne pose aucun problème puisqu'un simple mélange suffit et ne modifie pas sensiblement l'équilibre des produits.

- En nutrition parentérale totale, les émulsions lipidiques sont largement utilisées. Elles sont
- 15 réalisées en émulsionnant des huiles végétales avec de la lécithine d'oeuf ou GPL. En utilisant des lécithines provenant "d'oeuf industriel" l'apport en DHA est très faible, alors qu'en utilisant pour réaliser l'émulsion des lécithines provenant des oeufs riches en DHA, comme décrit dans l'invention, l'apport est très supérieur et permet d'obtenir un produit contenant des GPL très enrichis en DHA biodisponible intégralement pour les membranes cellulaires.

- 20 Ceci est essentiel à la fois pour la nutrition parentérale totale à long terme et pour la nutrition parentérale et entérale des prématurés et nouveau-nés qui ont des besoins extrêmement importants pour leur bon développement cérébral et rétinien et tout simplement pour garantir l'avenir.

7.4- Industrie Cosmétique et Dermatologique

- 25 Les GPL riches en DHA en applications cutanées sont particulièrement indiqués dans tous les produits ayant une visée anti-inflammatoire et anti allergique. Leur intérêt est important dans les dermatites atopiques, le psoriasis, le lupus érythémateux pour ses manifestations cutanées (et par voie buccale pour ses manifestations rénales).

30 7.5- Industrie Animalière et Vétérinaire

Les GPL enrichis en DHA sont indiqués dans l'alimentation animale, à la fois pour les mammifères et d'autres espèces telles que les oiseaux, les poissons d'élevage, les alevins de poissons et en aquariophilie.

35 8.- Les Originalités de l'invention

L'invention présente plusieurs originalités :

- 1ère originalité: Le produit naturel, l'oeuf spécifiquement enrichi en DHA, selon l'invention est un produit unique modifié par voie biotechnologique et donc essentiellement naturel, il ne s'agit
- 40 pas d'un quelconque mélange de produits lipidiques.

2ème originalité: Le produit naturel selon l'invention a un très fort rapport masse d'acide DHA divisé par la somme des masses d'acide DHA plus EPA puisqu'il est égal ou supérieur à 0,9. Il peut à ce titre être considéré comme une forme d'apport alimentaire de DHA pratiquement pur.

- 5 **3ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention contient une quantité de DHA au moins égale à 2% de la fraction lipidique du jaune d'oeuf, soit plus de 100 mg environ de DHA par jaune d'oeuf de poule; en même temps, il contient de l'EPA dans la proportion d'un dixième, au plus, de la masse du DHA. Le pourcentage global est assez proche de celui de la composition des membranes cellulaires humaines ce qui est notoirement bénéfique.

- 1 0 **4ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention apporte le DHA principalement sous forme de diacylglycérophospholipides à raison de $8 \pm 1,5\%$ (poids pour poids) de GPL par rapport à la masse du jaune d'oeuf frais.

L'importante quantité de GPL contenant du DHA garantit un transport optimal vers les membranes cellulaires, ce qui est bénéfique à la santé.

- 1 5 **5ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention peut être utilisé directement en lieu et place des oeufs industriels classiques pauvres en DHA et des ovoproduits dérivés de façon à constituer une source d'apport naturelle de DHA.

- 2 0 **6ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention peut être utilisé pour la préparation d'extraits lipidiques enrichis en DHA qui pourraient remplacer les mêmes extraits obtenus à partir d'oeufs industriels classiques pauvres en DHA, en particulier jaune d'oeuf nature et concentré après deshydratation et extraits lipidiques tels que huile d'oeuf et lécithines d'oeuf.

7ème originalité: Le produit naturel selon l'invention permet de préparer des extraits tels que décrits dans la 6ème originalité qui peuvent conduire à la fabrication d'extraits lipidiques très enrichis en DHA vis à vis de l'EPA, protégés ou non de l'oxydation par des antioxydants.

- 2 5 **8ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention constitue une source de phospholipides très riches en DHA qui peuvent être utilisés pour réaliser des émulsions lipidiques pour nutrition parentérale totale et nutrition entérale avec une teneur en DHA jusqu'alors inégalée, utilisables également pour différentes préparations diététiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et vétérinaires visant un apport spécifiquement accru en DHA.

- 3 0 **9ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention est particulièrement adapté à l'utilisation diététique pour préparer les futurs parents à la fertilité et à la conception d'enfants aptes à un bon développement.

- 3 5 **10ème originalité:** Le produit naturel selon l'invention peut être utilisé directement par incorporation dans les produits de nutrition entérale et utilisé avantageusement pour réaliser les émulsions lipidiques indispensables en nutrition parentérale totale permettant un apport spécifique en DHA jamais obtenu jusqu'alors.

11ème originalité: Le produit naturel selon l'invention constitue un moyen simple et pratique de garantir l'incorporation du DHA selon les besoins des membranes cellulaires avec, aussi, une quantité suffisante d'EPA pour un bon fonctionnement physiologique, à coût relativement faible

puisque le surcoût est d'un pourcentage restreint par rapport à la production d'un oeuf ordinaire.
De plus, la mise à disposition du marché du produit naturel selon l'invention est facile à assurer.

9.- Revendications

- 1 - Procédé biotechnologique de production de diacylglycérophospholipides enrichis en DHA caractérisé par le fait que l'on administre à des espèces aviaires des produits alimentaires contenant du DHA, les oeufs produits contenant du DHA synthétisé par l'animal et le DHA alimentaire. Ces DHA étant essentiellement incorporés et concentrés dans le diacylglycérophospholipides sans augmentation appréciable d'EPA.
- 2 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé par le fait que l'on incorpore dans l'alimentation de 0,5 à 25% d'huile de chair de poisson, ou d'huile de foie de poisson, ou bien de farine de poisson ou d'autolysat de poisson.
- 3 - Produit obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 ou 2 caractérisé par le fait qu'il contient des diacylglycérophospholipides enrichis en DHA.
- 4 - Produit selon la revendication 3 caractérisé par le fait qu'il est constitué par les oeufs obtenus par le procédé.
- 5 - Produit selon l'une des revendications 3 ou 4 caractérisé par le fait qu'il est constitué essentiellement à base de diacylglycérophospholipides contenant au moins 20% en masse du DHA contenu dans les lipides totaux de l'oeuf.
- 6 - Produit selon l'une des revendications 3 à 5 caractérisé par la conjonction des 3 paramètres suivants :
 - a) la teneur massique du DHA dans les lipides totaux de l'oeuf représente 90% ou plus de la somme des masses de DHA et d'EPA.
 - b) la quantité de DHA représente 2%, ou plus, de la masse des lipides totaux du jaune d'oeuf,
 - c) les diacylglycérophospholipides du jaune d'oeuf contiennent 20% en masse, ou plus, du DHA contenu dans les lipides totaux de l'oeuf.
- 7 - Produit selon l'une des revendications 3 à 6 caractérisé par le fait qu'il contient environ $8 \pm 1,5\%$ (poids pour poids) de diacylglycérophospholipides par rapport à la masse du jaune de l'oeuf frais.
- 8 - Produit selon l'une des revendications 3 à 7 caractérisé par le fait qu'il est constitué par des fractions des dits oeufs, et en particulier du jaune d'oeuf tel quel ou concentré après déshydratation et stabilisé ou non vis à vis de l'oxydation.
- 9 - Produit selon l'une des revendications 3 à 8 caractérisé par le fait qu'il est constitué par des extraits lipidiques des dits oeufs tels que huile et lécithine.
- 10 - Produit selon l'une des revendications 3 à 9 caractérisé par le fait qu'il est constitué par les fractions lipidiques telles que diacylglycérophosphatidyl-choline et diacylglycérophosphatidyl-éthanolamine et acides gras, sels de ces acides gras et leurs esters éthyliques obtenus par hydrolyse ou éthanolyse chimique ou enzymatique préparés selon revendications 3 à 9.
- 11 - Applications thérapeutiques des produits selon revendications 3 à 10 caractérisées par le fait que l'action du DHA est renforcée, sans perte de l'action de l'EPA en dépit de sa faible teneur, les dites applications étant entre autres relatives aux indications suivantes : troubles du métabolisme

- des lipides, prévention de l'athérosclérose, régulation de l'hémostase, baisse de la tension artérielle, prévention de l'inflammation et de la dégradation articulaire, ostéoporose, maintien de la capacité immunitaire et prévention des infections, amélioration de la fertilité des couples, régulation du diabète, prévention du cancer, amélioration du métabolisme des lipides dans le Syndrome
- 5 Immuno Dépression Acquisée, maintien du bon fonctionnement des tissus nerveux, du système nerveux central et de la rétine, prévention partielle du vieillissement, troubles dus à la dépression nerveuse et au stress, traitement des maladies neurologiques y compris la maladie d'Alzheimer, prévention partielle de la réaction allergique, prévention partielle de l'effet des xénobiotiques toxiques : tabac, alcool.
- 10 12 - Applications alimentaires des produits selon revendications 3 à 10 caractérisés par le fait qu'ils sont incorporés dans des compositions telles que : produits laitiers, laits maternisés, aliments pour bébés, aliments pour sportifs, produits de boulangerie, pâtisserie, confiserie, biscottes, pain d'épices, pâtes alimentaires et leurs sous-produits, poudre d'oeuf pour collectivités, pour restauration, pour cuisine domestique, produits pour épicerie type panure, produits de
- 15 charcuterie.
- 13 - Applications diététiques des produits selon revendications 3 à 10 caractérisés par le fait qu'ils sont incorporés sous un volume réduit dans les produits diététiques.
- 14 - Formes galéniques des produits selon revendications 3 à 11 caractérisés par le fait qu'elles se présentent sous forme de supplémentation nutritionnelle et nutrition entérale par incorporation et en
- 20 nutrition parentérale par son utilisation dans les émulsions lipidiques directement obtenues à partir des dits produits, le DHA contenu dans les dites émulsions étant sous forme de diacylglycérophospholipides intégralement biodisponibles.
- 15 - Applications cosmétologiques et topiques dermatologiques des produits selon revendications 3 à 11 caractérisés par le fait que les dits produits sont incorporés dans les compositions
- 25 cosmétologiques et topiques dermatologiques.
- 16 - Applications à la nutrition animale et à l'usage vétérinaire des produits selon revendications 3 à 12 caractérisés par le fait qu'elles concernent les mammifères, les oiseaux mais aussi d'autres espèces animales telles que les poissons d'élevage, les alevins de poisson et en aquariophilie.

30

35

40

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2749133

N° d'enregistrement
nationalFA 532017
FR 9607020

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 9545 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 95-348501 XP002026756 & JP 07 238 293 A (BIZEN KASEI KK) , 12 Septembre 1995 * abrégé *</p>	1-10
X	<p>--- US 5 089 268 A (KATZ DAVID P) * revendication 1 *</p>	1-4, 11, 14
X	<p>--- DATABASE WPI Section Ch, Week 8933 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A96, AN 89-307256 XP002026757 & SE 8 705 122 A (NUTRITIONAL RES INS) , 23 Juin 1989 * abrégé *</p>	1-4, 8-11, 14
X	<p>--- JAPANESE JOURNAL OF NUTRITION, vol. 53, no. 4, 1995, JP, pages 255-262, XP000618766 T. TAKITA ET AL.: "Effects of dietary corn oil and fish oil on concentrations of total cholesterol and n-3 and n-6 polyenoic acids in tissues of laying hens" * page 255, Résumé *</p>	1-4
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		A23K A23L A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
3 Mars 1997		Dekeirel, M
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons</p> <p>& : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1

EPO FORM 1503 (03.82) (P04C13)

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2749133

N° d'enregistrement
nationalFA 532017
FR 9607020

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 8415 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class C03, AN 84-092055 XP002026758 & JP 59 039 258 A (NISSHIN FLOUR MILL KK) , 3 Mars 1984 * abrégé *	1-4
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
3 Mars 1997		Dekeirel, M
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

1

EPO FORM 1503 03/92 (P04C13)

This Page Blank (uspto)